FICHE TECHNIQUE

COMPASS® *CC* AGAR

DENOMBREMENT DES *E. COLI* ET DES COLIFORMES

BM15308
BK210HA
BS08408

1 DOMAINE D'UTILISATION

COMPASS® *cc* Agar permet d'effectuer le dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux par la méthode de filtration sur membrane en 24 heures et sans étape supplémentaire de confirmation par les tests de recherche de l'oxydase ou de révélation de la production d'indole à partir du tryptophane.

BKR 23/08-06/12
METHODES D'ANALYSE POUR L'EAU
Performances analytiques certifiées
www.afnor-validation.org

COMPASS® *cc* Agar est adapté aussi bien au contrôle des eaux désinfectées et des autres eaux potables ne comprenant qu'un faible nombre de bactéries, qu'au contrôle des eaux chargées en flore interférente.

COMPASS® *cc* Agar est certifié NF VALIDATION pour le dénombrement des *Escherichia coli* et des coliformes dans les eaux de consommation humaine en 24 heures.

2 HISTORIQUE

La classification des coliformes est traditionnellement fondée sur leur capacité à fermenter le lactose avec production d'acide. Des souches lactose lent ou lactose-négatif sont recensées parmi toutes les espèces de coliformes. Les milieux traditionnels ignorent ces biotypes β-galactosidase-positive mais perméase-négative. En 1989, Leclerc et Mossel ont donc proposé que la présence d'une β-galactosidase chez les coliformes soit utilisé comme critère de leur classification. L'utilisation d'un substrat synthétique chromogène, insensible aux variations dans la perméabilité au lactose, permet de mettre en évidence cette enzyme par une réaction colorée.

Buehler *et al.,* en 1949, furent les premiers à relever la présence d'une β-D-glucuronidase chez *Escherichia coli*. Depuis, des études ont montré que 94 à 97% des *Escherichia coli* possèdent une β-D-glucuronidase et qu'elle n'est que très rarement retrouvée chez d'autres espèces.

3 PRINCIPES

- La présence simultanée de deux substrats chromogènes permet la détection des deux activités enzymatiques spécifiques : la β-galactosidase et la β-glucuronidase.
- Les bactéries appartenant au groupe des coliformes se distinguent par la production d'une β-galactosidase (β-gal). Cette enzyme réagit avec le mélange chromogène pour former un précipité de couleur rose.
- Toutes les souches d' *Escherichia coli* possèdent une β-galactosidase et 94 à 97% d'entre elles possèdent également une β-glucuronidase (GUD). La présence de cette enzyme est révélée par la présence d'un composé de couleur bleue. L'action simultanée des deux enzymes fait apparaître les colonies d'*Escherichia coli* en bleu violet.
- Du fait du principe utilisé, la méthode met en évidence les bactéries lactose négative mais β-galactosidase positive.

Microorganismes	Phénotype typique	Coloration des colonies
Escherichia coli	GUD $^{+}$ / β-gal $^{+}$	bleue violette
Coliformes non *Escherichia coli*	GUD $^{-}$ / β-gal $^{+}$	rose
Autres bactéries à Gram négatif	GUD $^{-}$ / β-gal $^{-}$	blanche

- Le mélange spécial de peptones favorise l'excellente croissance des coliformes et le système sélectif permet d'inhiber les espèces potentiellement interférentes.
- Le système tampon permet de se placer dans les conditions optimales des réactions enzymatiques.

BIOKAR Diagnostics
Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

4 PREPARATION

Préparation du milieu déshydraté :

- Mettre en suspension 40,8 g de milieu déshydraté (BK210) dans un litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en flacons à raison de 100 mL par flacon.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.
- Après refroidissement du milieu à 44-47°C, ajouter 1 mL de supplément sélectif reconstitué avec 5 mL d'eau stérile (BS084).
- Couler en boîtes de Petri (Ø 55 mm).

✓ **Reconstitution :** 40,8 g/L

✓ **Stérilisation :** 15 min à 121°C

✓ **ajout du supplément sélectif**

NOTE : Protéger impérativement les boîtes de la lumière.

5 MODE D'EMPLOI

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant (24 ± 3) heures.

✓ **Inoculation :** Filtration

✓ **Incubation :** 24 h à 36°C

6 LECTURE

Dénombrer les colonies caractéristiques
Les coliformes autres que *Escherichia coli* présentent des colonies roses.
Les colonies d'*Escherichia coli* sont bleues à violettes et peuvent parfois présenter un halo rose de diffusion.

NOTE : Les lectures peuvent se faire également au dos de la boîte.

(Voir annexe 1 : Support photo)

7 FORMULE-TYPE

Formule-type pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales.

Pour 1 litre de milieu complet :

- Mélange spécial de peptones ..... 18,40 g
- Activateurs de croissance ..... 3,55 g
- Système tampon ..... 5,80 g
- Mélange chromogénique ..... 0,44 g
- Système inhibiteur ..... 1,61 g
- Agar agar bactériologique ..... 11,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 6,8 ± 0,2.

8 CONTROLE QUALITE

- Milieu préparé complet : gélose ambrée.
- Réponse culturale de croissance après 24 h d'incubation à 36 °C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité)	Aspect des colonies
Escherichia coli	WDCM 00179	$66\% \leq R_2 \leq 150\%$	Bleu violet
Escherichia coli	WDCM 00013	$66\% \leq R_2 \leq 150\%$	Bleu violet
Citrobacter freundii	WDCM 00006	$66\% \leq R_2 \leq 150\%$	Rose
Staphylococcus aureus	WDCM 00035	inhibée	-

BIOKAR Diagnostics
Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

9 CONSERVATION

Milieu de base déshydraté :
Stocker entre 2°C et 8°C. La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
Milieu complet préparé en boîtes, avec supplément : 1 mois à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Milieu complet pré-coulé en boîtes de Petri, Supplément sélectif :
Stocker entre 2°C et 8°C, à l'abri de la lumière.
Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.

10 PRESENTATION

Milieu complet précoulé en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :
Coffret de 20 boîtes BM15308

Milieu de base déshydraté COMPASS® *cc* Agar
Flacon de 500 g BK210HA

Supplément sélectif pour COMPASS® *cc* Agar (qsp 500 mL) :
Coffret de 10 flacons BS08408

11 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

MANAFI, M., KNEIFEL, W., and BASCOMB, S.. 1991. Fluorogenic and chromogenic substrates used in bacterial diagnostics. Microbiological Reviews, **55** : 335-348.

NF EN ISO 9308-1 : 2000 « Qualité de l'eau : Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes – Partie 1 : Méthode par filtration sur membrane ».

12 AUTRES INFORMATIONS

COMPASS® est une marque de SOLABIA S.A.S..
Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.

Code document : BM153/F/2010-03 : 4.
Date de création : 03-2010
Date de révision : 01-2013
Motif de la révision : Remaniement général

BIOKAR Diagnostics
Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

ANNEXE 1 : SUPPORT PHOTO

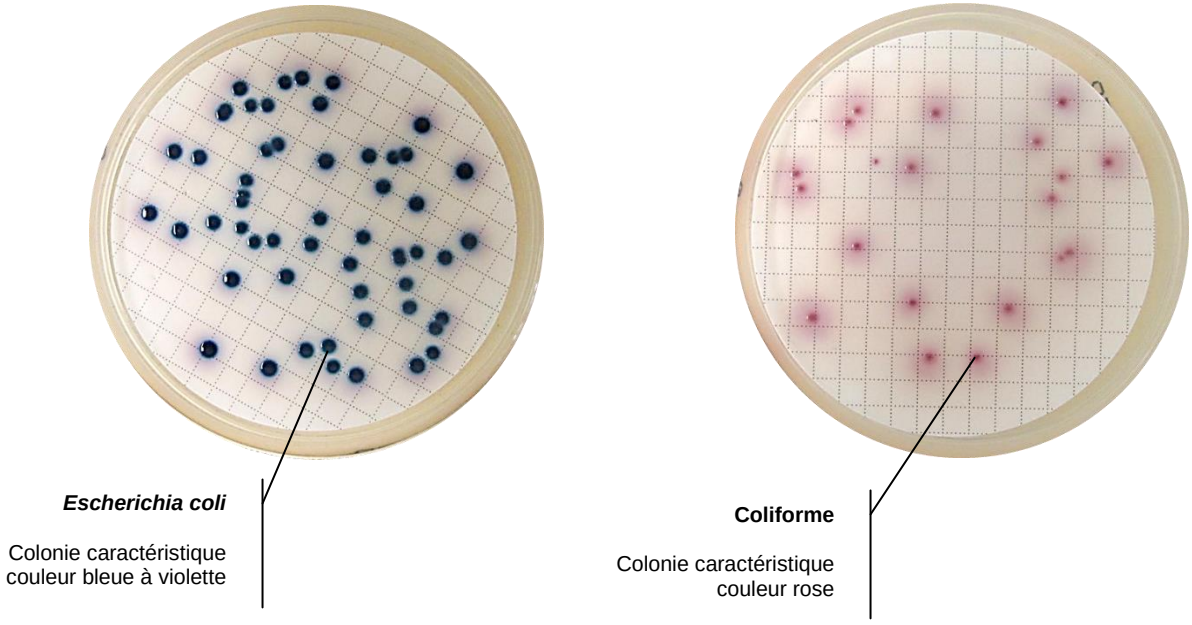
COMPASS® *cc* Agar

Méthode pour le dénombrement des *Escherichia coli* et des coliformes dans les eaux de consommation humaine en 24 heures.

Méthodologie :

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes déposer la membrane en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant (24 ± 3) heures.

Lecture et dénombrement :



Microorganismes	Phénotype typique	Coloration des colonies
Escherichia coli	GUD $^{+}$ / β-gal $^{+}$	bleue violette
Coliformes non *Escherichia coli*	GUD $^{-}$ / β-gal $^{+}$	rose
Autres bactéries à Gram négatif	GUD $^{-}$ / β-gal $^{-}$	blanche

Le dénombrement des *E.coli* s'obtient en faisant la somme des **colonies bleues à violettes**.
Le dénombrement des coliformes totaux s'obtient en faisant la somme des **colonies roses** et des **colonies bleues à violettes.**

Code produit :

BM15308 : Milieu pré-coulé en boîtes de Petri (Ø 55 mm) - Coffret de 20 boîtes

BIOKAR Diagnostics
Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – 60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr